- MANUAL DE INSTRUCCIONES -

REACTIVOS A GRANEL PSILOCYBIN QTEST
(PARA USO CON EL FOTÓMETRO QTEST)

Análisis preciso de la concentración de psilocibina en setas, trufas y extractos

INFORMACIÓN IMPORTANTE: ¡LEA ESTO PRIMERO!

- Utilice ropa protectora, guantes y gafas, y recuerde siempre que la solución de detección contiene ácido. Se debe tener especial cuidado al pipetear la solución en las cubetas.
- Utilice este kit a temperatura ambiente (si se almacena en el frigorífico, déjelo calentar durante una hora).
- Evalúe el resultado inmediatamente después del tiempo de desarrollo de 15 minutos.
- Este kit solo funciona con material fúngico seco (sustancias sólidas o en polvo). No funciona con champiñones frescos.
- Manipulación cuidadosa de la aguja semiafilada y del agua caliente (riesgo de lesiones/quemaduras).
- Las cubetas tienen un pequeño triángulo que debe apuntar en la dirección del haz de luz LED.
- Lea todas las instrucciones (estas y las del fotómetro QTest) al menos una vez antes de comenzar la prueba.

INSTRUCCIONES DE USO

1. ÁMBITO DE USO

- Este kit de prueba está destinado a usuarios experimentados que conocen los peligros que entraña pipetear ácidos. Para aumentar la precisión del resultado, recomendamos utilizar una pipeta de 1 ml con puntas desechables, aunque también se incluyen jeringas desechables.
- El Psilocybin QTest calcula la cantidad total de ambos ingredientes activos (psilocibina y psilocina) en la muestra de hongos. Aunque presentamos el total en términos de psilocibina, solo porque es el alcaloide más conocido, los resultados indican la potencia de las setas, incluyendo tanto la psilocibina como la psilocina.
- Con los reactivos de este kit de prueba se pueden realizar al menos 25 análisis de concentración, y hay suficiente reactivo para realizar 5 mediciones en blanco adicionales.

2. PREPARACIÓN PARA LA PRUEBA

Saque todos los elementos del kit. Junto con estas instrucciones, debe tener:

- 4 guantes protectores
- 1 vial grande de plástico marrón con tapón de rosca (40 ml de solución de extracción transparente -> **¡debe conservarse en un lugar fresco!**)
- 1 x Frasco con la solución de detección (30 ml de solución de detección, ligeramente amarilla)
- 5 jeringas de 1 ml
- 5 agujas semiafiladas
- 25 puntas de filtro para jeringa (Sterifilt)
- 25 tubos de reacción de 1,5 ml
- 25 tubos de reacción de 2 ml
- 25 cubetas transparentes

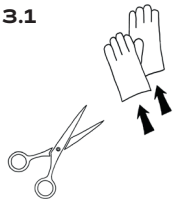
También necesitarás una balanza miligramométrica, un baño maría a 176 °F u 80 °C (o una olla para hervir agua), pinzas (o pinzas de cocina), tijeras/moledor y un embudo pequeño o un trozo de papel arrugado para verter con cuidado el material del hongo en el tubo de reacción con el vial de solución de extracción.

Cuando se analiza material seco: antes de comenzar la prueba, debe homogeneizar completamente el material seco de hongos. Lo mejor es utilizar un mortero y una maja para muestras liofilizadas, un molinillo típico o incluso unas tijeras con un tubo Falcon de 50 ml. No es necesario pulverizar la muestra, ya que esto provocaría que el filtro se obstruyera con mucha más facilidad. A continuación, mezcle bien el material picado. Para la prueba se utilizarán 50 miligramos (mg) de material. El resultado le indicará el porcentaje de psilocibina en 1 gramo (g) del material homogeneizado restante (en términos de mg/g).

Al analizar extractos: los extractos suelen ser más concentrados. Para garantizar que el resultado del color de la prueba siga estando dentro del rango lineal del Psilocybin QTest, hay que reducir la cantidad de material de partida en consecuencia. Antes de realizar la prueba, homogeneice la sustancia. Por lo general, los extractos de metanol tienen una concentración triple, por lo que, si tiene un extracto crudo, le recomendamos dividir la cantidad que utiliza para la prueba por el factor tres (~16,7 mg) o diluir el extracto en la solución de extracción y utilizar solo una parte. Si el extracto es considerablemente más concentrado, reduzca la cantidad inicial en consecuencia. El extracto debe estar lo más libre de disolventes posible, ya que estos pueden interferir con la solución de extracción. Recuerde que al final debe multiplicar el resultado del fotómetro por el factor utilizado para obtener el resultado real de la muestra restante.

3. REALIZACIÓN DE LA PRUEBA

3.1



En primer lugar, póngase los guantes de nitrilo adjuntos y utilice ropa protectora y gafas de seguridad adecuadas. Si lleva lentes de contacto, quíteselas. Los líquidos de los viales contienen ácidos que pueden causar irritación cutánea o daños oculares graves. Si entra en contacto con el líquido, quítese inmediatamente la ropa afectada y enjuague la zona cutánea afectada con agua durante varios minutos. En caso de contacto con los ojos, enjuague el ojo afectado con agua corriente durante varios minutos. (Mantenga a las mascotas, especialmente a los gatos, alejadas de la zona de la prueba).

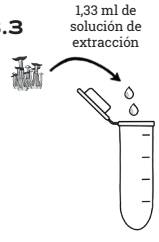
3.2

Pese cuidadosamente **50 mg (0,05 g)** de su material homogeneizado utilizando una balanza miligramo precisa. Para extractos concentrados, utilice una cantidad proporcionalmente menor.

Nota: *Eche un vistazo a nuestra tienda: Disponemos de una balanza asequible, precisa y calibrada en la que puede confiar.*

Precaliente el baño de agua a 176 °F (80 °C) o alrededor de ~ 1 litro de agua (aproximadamente cuatro tazas) en una olla en la estufa o en una tetera. Cuando el agua hierva, apague la estufa.

3.3



Abra el tubo de reacción de plástico de 2 ml y pipetee 1,33 ml de solución de extracción en él (si utiliza la jeringa, debe hacerlo en dos pasos: primero 1 ml y luego 0,33 ml). A continuación, vierta con cuidado el material fúngico utilizando un pequeño embudo o un trozo de papel arrugado. Vuelva a tapar bien el tubo de reacción y agítelo durante aproximadamente 30 segundos. A continuación, deje el vial en reposo y espere 10 minutos. Repita el proceso de agitación dos veces durante este periodo de espera, una vez a los 3 minutos y otra a los 7 minutos aproximadamente. Si el material se queda pegado en la parte superior, agítelo más a menudo mientras espera.

3.4

Si dispone de una centrífuga, también puede centrifugar la biomasa y utilizar el sobrenadante libre de partículas. Si no es así, desembale la jeringa y la punta del filtro de la jeringa. Coloque la punta del filtro bien ajustada a la jeringa. Abra el tubo de reacción de plástico e inserte la punta del filtro (¡asegúrese de insertar el filtro redondo lo más recto y ajustado posible en el tubo de 2 ml!). El filtro debe poder introducirse ligeramente en el recipiente de reacción y sellarlo completamente. Ahora puede dar la vuelta al recipiente de reacción, tirar completamente del émbolo de la jeringa y mantenerlo en esa posición. Esto creará una presión negativa y la jeringa se llenará lentamente de líquido; solo necesitará 0,33 ml para el siguiente paso. Sin embargo, recomendamos extraer unos 0,5 ml (si el filtro se obstruye, puede limpiarlo con cuidado y volver a intentarlo).

Retire la jeringa del tubo de plástico. Además, separe el filtro estéril de la jeringa y golpee suavemente la jeringa con la uña mientras la mantiene en posición vertical. De esta manera, las burbujas de aire subirán y podrá extraer con cuidado toda la solución de extracción hasta que queden exactamente 0,33 ml en la jeringa sin burbujas de aire. La forma más precisa de hacerlo es utilizando una pipeta; si no dispone de una, siga nuestras instrucciones lo más fielmente posible.

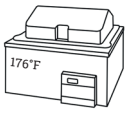
3.5

precisión o intente ser lo más preciso posible con la jeringa. Añada 1 ml de la solución de detección y cierre el tubo de reacción. Mezcle los líquidos invirtiendo el tubo varias veces.

NOTA: *El líquido del tubo de reacción puede presentar ahora un color verdoso. Este cambio de color indica la presencia de psilocina en la muestra, pero no proporciona un resultado cuantitativo. Aún es necesario incubar el tubo en agua caliente.*

PREPARE UN BLANCO DE CONTROL: *Lo científicamente correcto en este punto sería preparar adicionalmente un tubo de reacción siguiendo los mismos pasos que para el tubo de muestra, pero sin añadir ninguna muestra. Utilice únicamente las soluciones de extracción y detección, siguiendo el mismo protocolo, e incube también este tubo en el baño de agua. Este tubo sirve como blanco, es decir, como referencia sin muestra, que posteriormente podrá utilizar en el fotómetro para corregir cualquier color o señal de fondo.*

3.6



Incube las muestras a 176 °F (80 °C) durante 15 minutos en un baño de agua o en una olla/hervidor. Los tubos de reacción deben estar bastante llenos y, por lo tanto, flotar en posición vertical sobre el agua; si lo tiene, puede utilizar una rejilla flotante.

Nota: *Para calentar agua, retire la olla del fuego, apague la cocina y espere 5 minutos. Si utiliza una olla o una tetera, asegúrese de que el agua ya no esté hirviendo. Las temperaturas demasiado altas provocan un aumento en los resultados de la medición y deben evitarse por completo.*

3.7

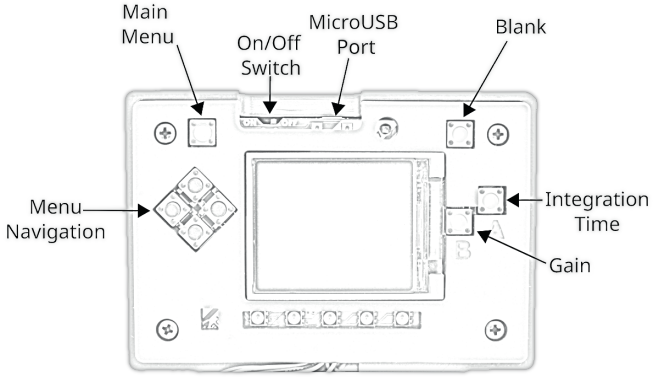
La solución del tubo comenzará a cambiar de color. Transcurridos 15 minutos, retire con cuidado el tubo flotante del baño de agua. **Al cabo de unos minutos, los tubos se habrán enfriado lo suficiente como para poder manipularlos**. Mientras tanto, encienda el fotómetro, seleccione el método de detección de psilocibina y deje que el LED se equilibre durante al menos 5 minutos. Ahora puede abrir el tubo de reacción y pipetear toda la solución en una cubeta. Comience por poner a cero el fotómetro utilizando su blanco preparado y, a continuación, proceda a medir su muestra.

3.8

RESULTADOS: La concentración correspondiente de psilocibina/psilocina se indica en miligramos por gramo de material (mg/g). Esta concentración se aplica al material homogeneizado restante.

Para los extractos, debe multiplicar el número que lee en el fotómetro por el mismo factor por el que redujo el material inicial al comienzo del proceso. Por ejemplo, si analizó un extracto 3X y redujo el material inicial en un factor de tres, debe multiplicar por tres para obtener el resultado correcto. Del mismo modo, si analizó un extracto 10X (utilizando 5 mg), debe multiplicar por diez.

4. INSTRUCCIONES BREVES FOTÓMETRO QTEST



Primeros pasos:

- Encienda el fotómetro.
- Lea las instrucciones del archivo «README» que encontrará en la sección de fotómetros de nuestra tienda web (conéctelo al ordenador).
- Aparecerá la pantalla de introducción, seguida de la pantalla de absorbancia predeterminada.
- Pulse el botón superior izquierdo para acceder al menú y utilice el grupo de 4 botones de la izquierda para navegar «↑↓» por el menú.
- Para seleccionar un modo (por ejemplo, transmisión), pulse el botón derecho «→» del grupo.
- Pulse el botón superior izquierdo para volver al menú en cualquier momento.
- Seleccione la medición de psilocibina utilizando el menú de navegación.
- ¡Deje que los LED se calienten!
- Antes de iniciar una medición, debe poner a cero (también conocido como «calibrar») el colorímetro. Esto establece el fondo de medición con el que se compara su muestra. Coloque la muestra en blanco en el soporte de la cubeta. Coloque la cubierta negra que bloquea la luz sobre el soporte de la cubeta (la cara marcada con un triángulo apuntando hacia abajo debe colocarse paralela a la pantalla del fotómetro y asegúrese de que apunte hacia usted).
- Pulse el botón en blanco de la parte superior derecha. Debería ver una línea parpadeante con la palabra «Blanking» en la pantalla.
- Una vez finalizado el borrado, introduzca la muestra y registre el valor de concentración.
- Ahora se pueden medir varias muestras una tras otra sin necesidad de pulsar un nuevo botón.
- No permita que el ácido gotee sobre el fotómetro, especialmente sobre la óptica. ¡Trabaje de forma limpia!
- Siga las mismas instrucciones de uso y seguridad que se describen en el manual del fotómetro.

CHAT DE SEÑALES Y PREGUNTAS FRECUENTES

Consulte nuestra sección de preguntas frecuentes en https://www.miraculix-lab.de/en/qtest-photometer/step-by-step-guide

Si necesita ayuda con la evaluación, especialmente con el fotómetro, únase a nuestro chat de Signal Signal Chat (¡preguntas y respuestas rápidas con nosotros y otros usuarios del fotómetro!).

5. LIMITACIONES

- La prueba Psilocybin QTest se desarrolló para permitir la determinación más lineal y precisa de la concentración de psilocibina/psilocina. Ni siquiera la norbaeocistina y la baeocistina dan falsos positivos. Dado que la prueba es también increíblemente sensible, pueden producirse reacciones falsas positivas débiles con material fúngico que no contiene psilocibina. La reacción cruzada es muy probablemente una reacción falsa positiva al indol reactivo. Por lo tanto, al analizar setas silvestres, correlacione su resultado de concentración posiblemente
- débil con la morfología de sus setas y asegúrese de que se trata de setas que contienen psilocibina.
- Las setas recolectadas en la naturaleza siempre pueden ser las llamadas «dobles». Esto es especialmente peligroso en el caso de la venenosa Galerina marginata. Un resultado positivo en la concentración no excluye la posibilidad de que la cantidad homogeneizada contenga también otras setas venenosas potencialmente mortales.
- Fuentes de posibles inexactitudes en los resultados de concentración: las muestras se hirvieron con calor adicional y no solo se incubaron en agua caliente, lo que dará lugar a un resultado de concentración más alto (casi negro), pesaje inexacto (báscula inexacta), variaciones en la cantidad de líquido de extracción añadido, reactivos de detección caducados/descoloridos, no se extrajo toda la psilocibina/psilocina debido al corto tiempo de extracción, tiempo de incubación demasiado corto o demasiado largo, muestra no representativa analizada (cantidad homogeneizada demasiado pequeña o insuficientemente homogeneizada).

6. ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

Guarde los reactivos en el frigorífico (entre 2 y 8 °C) y protegidos de la luz solar directa para garantizar una vida útil de al menos 18 meses tras su fabricación. La solución de extracción, en particular, debe conservarse siempre refrigerada. Tomar alícuotas de la solución de extracción directamente de los tubos aumenta la estabilidad, ya que no es necesario sacar toda la solución del frigorífico varias veces. El líquido de extracción puede adquirir un tono ligeramente amarillento con el tiempo. No se preocupe, sigue siendo utilizable.

7. ADVERTENCIAS

- Preste atención a las etiquetas de los viales de reactivos.
- El kit de prueba debe mantenerse siempre fuera del alcance de los niños y los animales.
- Cuando utilice el kit de prueba, debe llevar guantes adecuados, ropa protectora y protección facial/ocular.
- Si lleva lentes de contacto, quíteselas antes de utilizarlo.
- No se deben ingerir ni inhalar los materiales y líquidos suministrados.
- Los líquidos incluidos en el kit de prueba contienen diversos ácidos que pueden causar irritación cutánea o daños/irritación ocular graves. Debe evitarse el contacto con la piel, los ojos, la boca o la ropa.
- Si se produce contacto con las zonas mencionadas anteriormente, quítese inmediatamente la ropa afectada. Enjuague o lave inmediatamente las zonas de la piel afectadas con abundante agua durante varios minutos.
- En caso de contacto con los ojos, enjuáguelos inmediatamente con abundante agua durante varios minutos.
- Manipule con precaución la aguja semiafilada y el agua caliente (riesgo de lesiones/quemaduras).

8. EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD

- Las pruebas Miraculix QTests solo deben utilizarse con fines de investigación y para cuantificar sustancias desconocidas.
- Su muestra podría estar adulterada con una o más sustancias desconocidas que reaccionan de forma cruzada con los reactivos, lo que afecta al resultado cuantitativo.
- El resultado no significa que su muestra sea segura para el consumo. Aún podría contener sustancias no deseadas e impurezas que pueden ser perjudiciales o incluso mortales.
- El resultado no sirve para identificar la especie de hongo. Los hongos que contienen psilocibina pueden tener un aspecto similar al de los hongos venenosos. Los hongos que no contienen psilocibina podrían reaccionar de forma cruzada con los reactivos y producir manchas leves. Se trata de una reacción falsa positiva, presumiblemente al indol reactivo.
- Miraculix no asume ninguna responsabilidad por el uso o mal uso del kit de prueba o de los resultados.
- Las muestras procesadas con el kit de prueba no deben consumirse.
- Tecnología pendiente de patente.